

급속진행형 치주염에서 Minocycline을 함유한 Polycaprolactone film의 임상 및 미생물학적 효과에 관한 연구

서울대학교 치과대학 치주과학교실
최현순 · 엄흥식 · 정종평

I. 서 론

세균이 치주질환에서 결정적인 원인요소로 작용하며 치주 병소의 파괴적 성향은 치은연하 치태가 존재할 때만 작용한다는 것은 잘 알려진 사실이다¹⁾. 다른 형태의 치주질환은 각각 다른 종류의 세균과 연관성이 있으며 건강한 치주 조직과 질환에 이환된 치주조직의 병소로부터 채취한 치은 연하 치태의 세균조성은 뚜렷한 차이를 가진다^{2,3)}. 예를 들면 건강한 치주조직의 치은열구에는 Gram 양성세균, *Streptococcus*나 *Actinomyces*등이 지배적으로 많이 존재하며 gingivitis의 경우 Gram 음성 세균이 우세하며, 이중 *F. nucleatum*, *Bacteroides melaninogenicus*등이 45% 이상을 차지하고 있다⁴⁾. LJP환자의 경우 Gram음성균이 대부분으로 *Capnocytophaga*가 상당히 많이 존재하며 급속진행형 치주염에서는 치은 연하 치태에 Gram음성균, 혐기성 막대균, 나선형 세균들이 지배적으로 많이 존재한다는 것이 밝혀 졌다⁴⁾.

서로 다른 특정한 세균에 의해 치주질환이 야기된다는 가설을 기초로하여 의심되는 치주 병인성 세균의 선택적 제거 또는 억제를 위한 보조적 수단으로 항생제의 사용에 대한 관심이 증가되고 있다. 몇몇 연구들은 작용범위가 넓은 항생제를 전신적으로 투여했을때 치주질환의 치료에 효과적이었음을 보고하고 있다^{5,6)}. 그러나 전신적인 약의 투여방법은 부작용의 위험,

장내 유익한 세균에 대한 영향, 내성균의 출현등의 위험을 고려할때, 그 용량과 투여기간이 제한될 수 밖에 없다. 약을 사용한 치주치료의 기본원리는 작용하고자 하는 부위에 적절한 농도로 효과를 나타낼 수 있게 충분한 기간동안 유지되어야 한다.

이러한 관점에서 볼 때, 조절성 국소약물 송달제제를 치주낭속에 삽입하는 방법이 약의 전신적 투여 방법보다 훨씬 효과적일것으로 생각된다. 최근 방출 조절성 제제로서 생체에 적합한 고분자와 생분해가 가능한 고분자들이 많이 이용되어 왔다. Goodson등⁷⁾이 cellulose acetate로 만들어진 투과성 hollow fiber에 Tetracycline을 포함시켜 치은염을 치료한 결과 치주조직의 세균조성과 임상증상에서 빠른 시간내 상당히 개선된 효과를 얻었다고 보고한 이후 전달물질에 의해 항생제를 치주낭속에 국소적으로 적용하고자 하는 많은 시도가 있었다^{8,9)}. Yeung¹⁰⁾등은 Acrylic resin을 매개로 하여 40% Metronidazole을 4주간 치주낭에 적용시킨 결과 세 달이상의 치주질환의 개선을 관찰하였으며 Addy등¹¹⁾은 acrylic strip과 dialysis tubing을 이용해서 Metronidazole, Tetracycline, Chlorhexidine을 치주낭속에 적용시켰을 때 치은열구내 세균조성의 변화가 있었다고 보고하였다. Minabe등¹²⁾은 생체에서 분해가 가능한 collagen에 Tetracycline을 함유시킨 film을 치주낭에 삽입하여 spirochetes가 현저히

※ 본 논문은 1994년도 서울대학교병원 임상연구비(01-94-238) 지원에 의한 결과임.

감소된 결과를 얻었다.

Resorbable polymer에 항생제를 포함시킨 방출조절성 제제에 대한 연구가 시작된 이래¹³⁾ Kimura등¹⁴⁾은 Ofloxacin을 함유시킨 방출조절성 제제(PT-01)를 치주낭에 적용시켜 치은연하 세균조성의 개선을 얻었다고 보고하였다.

본 연구의 목적은 30% Minocycline을 함유한 polycaprolactone film을 급속진행형 치주염환자에 사용시 치주낭내의 임상 및 미생물학적 효과를 평가하고 일반적인 치주치료와 병행했을 경우와 비교 고찰하고자 하는데 있다.

II. 재료 및 방법

1. 연구대상

급속 진행형 치주염이면서 치주낭 깊이가 5 mm이상인 치아를 8개이상 소유한 30명의 환자를 선정하였다. 전신적 질환이 있거나, 최근 6개월이내에 치주치료를 받은 경험이 있거나 최근 3개월 이내에 항생제를 복용한 경험이 있는 환자는 제외하였으며 임신부와 분만후 3개월 이내의 환자는 제외하였으며, Tetracycline계 항생제에 과민증이 있는 환자도 제외하였다. 환자의 선정에서 진단은 임상 소견 및, 방사선 사진, 치주낭 깊이 등을 이용하였다.

2. 실험방법

각 환자에서 치주낭 깊이가 4mm이상이면서 서로 비슷한 부위를 4개씩 split mouth design으로 선정하여 각각 1, 2, 3, 4군으로 하였다. 실험 시작때(0주) 임상 및 미생물 검사를

한 후, 1군과 3군은 치은 연상 치석제거술을 시행하고, 2군과 4군에는 국소마취하에 치은 연하의 치석까지 제거하였다. 3군 4군에는 약제가 들어있는 국소약물송달 제제를, 1군 2군에는 Placebo film을 삽입(필요하다면 치주포대 실시)하고 1주일 후에 제거, 1주째 위 과정을 반복하되, 3군과 4군은 치은 연상의 치석만 제거하고 약제를 삽입하여 1주일 후에 약제를 제거하였다. 임상 및 미생물 검사는 0, 1, 2, 4, 8주째 시행하였다(Figure. 1.).

3. 임상검사

임상검사로는 치태지수(Loe & Silness)와 치은지수(Silness & Loe)를 측정하였으며 치주낭 깊이, 부착상실 및 치은 열구액 부피의 변화를 관찰하였다. 치주낭 깊이는 환자가 처음 내원시 acylic stent를 제작하여 실험대상 치아들의 기준점을 표시하고 그부위에 계속 측정하였다. 치은 열구액 부피는 Goodson등¹⁵⁾이 제시한 방법을 사용하였다. 즉, 측정하고자하는 부위를 방습한 후 periopaper strip*을 15초간 치주낭에 삽입한 후 Harco periotron**으로 측정하였다.

* : Periopaper strip, (Harco, PO Box 3666 Tustin, CA 92681 U. S. A)

** : Harco Periotron, (Harco, PO Box 3666 Tustin, CA 92681 U. S. A)

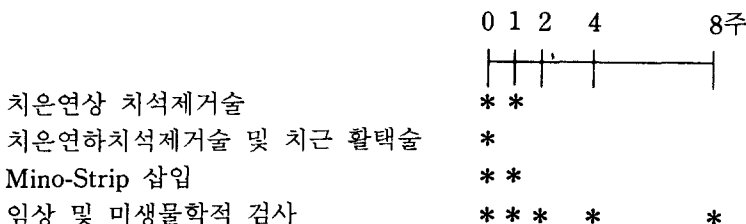


Figure.1. 실험 설계. 실험 0, 1주에 치은 연상 치석제거술과 구강위생교육을 시행하였다.

4. 치은연하 치태세균 동정

1) 위상차현미경 검사를 이용한 세균형태의 동정

치은 연상 치태를 완전히 제거한 후, Gracey curette으로 치은 연하 치태를 채취하여 0.2ml의 saline이 들어 있는 용기에 넣고 vortex로 10초간 혼합하였다. 23-gauge의 주사기로 흡입하여 slide에 한방울 떨어뜨린 후, 위상차 현미경으로 400배에서 관찰하였다. 세균의 형태를 cocci, non-motile rod, motile rod, spirochetes의 4군으로 나누어 각각의 %를 산출하였다.

2) 혐기성 세균배양법에 의한 세균동정

각 환자당 8개의 치주낭에서 치은연하 치태를 다음과 같은 방법으로 채취하였다. 치은 연상 치태를 조심스럽게 제거하고 방습한 후, 35번 paper point 3개를 저항감이 느껴질 때까지 치은연하로 넣고 30초간 있다가 2ml의 Ringer 용액이 들어있는 시험관에 넣고 2분간 vortex에서 균일하게 혼합하였다. 80% N₂, 10% CO₂, 10% H₂가 들어있는 37°C 혐기성 배양기 안에서 10배 단계희석을 시행하였다. *A. actinomycetemcomitans*, *E. corrodens*, *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Streptococcus*, *Campylobacter*를 감별하기 위하여 100µl의 희석용액을 선택배지에 접종하고 BPB와 혐기성 및 호기성 세균의 총수를 파악하기 위하여 5% 가토혈액을 함유한 혈액 한천배지에 각각 접종하여 37°C 혐기성 배양기(Laboratory products Inc. U. S. A.)에서 1주일간 배양하였다. *A. actinomycetemcomitans*는 10% CO₂ 배양기에서 2-3일간 배양한 후 colony 형태, catalase activity, gram staining의 특징을 근거로 감별하고 *Campylobacter* species와 *Actinomyces* species는 10% CO₂ 배양기에서 5일간 배양한 후 그람염색의 특징, 생화학적 검사를 통하여 감별하였다. *E. corrodens*와 *Fusobacterium* species는 혐기성 배양기내에서 5-7일간 배양한 후 colony 형태, 그람염색의 특징, 생화학적 검사를 통하여 감별하였다. 혈액한천 배지상의 혐기성 및 black-

pigmented colony의 총수는 혐기성 배양기에서 7-10일간 배양한 후 black pigmented colony를 채취, 배양하고 colony 형태, 그람염색 특성 및 생화학적 검사를 통하여 종류를 구별하고 아종을 분류하였다.

3) 간접면역형광법에 의한 세균동정

간접 면역 형광항체법 : 간접면역 형광항체법을 시행하기 위해, 세척한 세균 배양물을 PBS에 재현탁 시키고 열로 고정시킨 도말 표본을 준비하였다.

간접면역 형광법을 위하여 *P. intermedius* serotype c, *A. actinomycetemcomitans* serotype b, *F. nucleatum*, *B. forsythus*, *C. rectus*, *E. corrodens* 및 *P. gingivalis* serotype b를 각각 가토에 면역감작시켜 특이항체를 생산하였다. 각각의 특이항체는 타균간의 항원, 항체 교차반응 검사를 실시하여 교차반응이 없음을 확인한 후 냉동 보관하였다. 특이항체를 포함한 혈청액의 희석을 위하여 4% bovine serum albumin이 든 PBS를 준비하였다. 각각의 세균은 슬라이드 상에 도말하여 표본제작 후 희석 혈청액을 도말표본위에 떨어뜨리고 3분간 37°C에서 배양하였다.

그런다음 슬라이드는 PBS에서 15분간 세척하고, PBS-BSA로 희석시킨 conjugate와 함께 30분간 배양시킨 다음 PBS에서 1시간동안 세척해냈다. 간접면역형광법 관찰은 Olympus BH₂(Japan)를 이용하였고 HBO 200 mercury light source와 적절한 excitation filters(BG 38, BG 23, TK 495 dichroic mirror, 그리고 2개의 KP 490 filters)에서 나오는 incident light를 사용하여 형광의 강도를 측정하였다. 세포 외형이 정확히 나타나고, 중등도내지 현란한 형광을 나타낼 경우 양성반응으로 간주하였다. 항체 역가는 기하급수에서 산술급수로 변형시켜 자료 분석을 시행하였다.

군들간의 비교와 군내의 비교를 ANOVA 분석법에 의해 처리하였다.

III. 결 과

1. 임상지수

치태지수는 모든 군에서 실험 1, 2주에 감소하였으며 치은연하 치석제거술과 Mino-strip 을 처치한 4군에서는 실험 8주까지 유의한 치태지수의 감소를 관찰할 수 있었다(Table. 1.).

치은 지수역시 모든 군에서 감소하였으며, 실험 2주째 2, 3, 4군에서 현저하게 감소하였다. 1군과 4군간의 비교에서 2주이후 4군에서 치은 지수의 감소가 1군에 비해 현저하게 타 나났다(Table. 2.).

치주낭 깊이의 변화는 1군에서는 실험기간 동안 유의한 차이를 발견할 수 없었으나 2, 3 군에서는 2주와 4주째 유의하게 감소하였으며, 4군에서는 1주째 감소, 2, 4, 8주에 현저하게 감소하였다(Table. 3.).

부착상실의 변화를 보면 1군에서는 실험기간 동안 유의한 차이가 없었으나 2, 3군에서는 2주째 유의한 감소를 보였으며, 4군에서는 2, 4, 8주까지 감소하는 양상을 보였다(Table. 4.).

Table 1. Plaque Index score (Mean ± S. D.)

| Time(week) | Group1 | Group2 | Group3 | Group4 |
|------------|------------|-------------|------------|-------------|
| 0 | 1.4 ± 0.2* | 1.4 ± 0.3 | 1.4 ± 0.4 | 1.3 ± 0.3 |
| 1 | 1.1 ± 0.2* | 1.0 ± 0.2** | 1.1 ± 0.2 | 0.9 ± 0.3** |
| 2 | 1.1 ± 0.2* | 1.1 ± 0.3* | 1.1 ± 0.2* | 1.0 ± 0.2* |
| 4 | 1.3 ± 0.2 | 1.1 ± 0.3* | 1.1 ± 0.4* | 1.0 ± 0.3* |
| 8 | 1.3 ± 0.2 | 1.2 ± 0.4 | 1.2 ± 0.3 | 1.0 ± 0.4* |

Note : *, **Significantly different from Time (P<0.05, P<0.01)

Table 2. Gingival Index score (Mean ± S. D.)

| Time(week) | Group1 | Group2 | Group3 | Group4 |
|------------|------------|-------------|-------------|-------------|
| 0 | 2.2 ± 0.4 | 2.2 ± 0.8 | 2.1 ± 0.2 | 2.3 ± 0.4 |
| 1 | 1.8 ± 0.5* | 1.3 ± 0.6* | 1.6 ± 0.6 | 1.3 ± 0.5* |
| 2 | 1.8 ± 0.3* | 1.4 ± 0.5** | 1.3 ± 0.5** | 1.1 ± 0.5** |
| 4 | 1.9 ± 0.2* | 1.7 ± 0.3* | 1.4 ± 0.4** | 0.9 ± 0.3** |
| 8 | 1.9 ± 0.3* | 1.7 ± 0.3* | 1.5 ± 0.4* | 0.8 ± 0.3** |

Note : *, **Significantly different from Time (P<0.05, P<0.01)

치은 열구액 부피의 변화를 관찰한 결과 1 군에서는 역시 실험기간 동안 변화가 없었으나 2, 3군에서 2주이후 감소하였고 특히 4군에서는 1주째 감소 2, 4, 8주에 현저하게 감소하였다 (Table. 5.).

2. 치은연하 치태세균 동정결과

위상차 현미경을 통한 세균의 형태를 cocci, non-motile rod, motile rod, spirochetes로 구분하여 백분율로 비교 관찰한 결과, cocci는 1군에서 실험 1, 2주에 감소한 반면, 2, 3, 4

Table 3. Probing Depth score (Mean ± S. D. in mm)

| Time(week) | Group1 | Group2 | Group3 | Group4 |
|------------|-----------|------------|------------|-------------|
| 0 | 5.6 ± 0.5 | 5.7 ± 0.6 | 5.7 ± 0.7 | 5.4 ± 0.8 |
| 1 | 5.2 ± 0.4 | 5.2 ± 0.6 | 5.5 ± 0.7 | 4.8 ± 0.6* |
| 2 | 5.0 ± 0.2 | 5.1 ± 0.6* | 5.0 ± 0.6* | 4.6 ± 0.8* |
| 4 | 5.2 ± 0.6 | 5.0 ± 0.2* | 5.1 ± 0.8* | 4.6 ± 0.3** |
| 8 | 5.3 ± 0.8 | 5.2 ± 0.3 | 5.4 ± 0.7 | 4.1 ± 0.4** |

Note : *, **Significantly different from Time (P<0.05, P<0.01)

Table 4. Loss of Attachment (Mean ± S. D. in mm)

| Time(week) | Group1 | Group2 | Group3 | Group4 |
|------------|-----------|------------|------------|-------------|
| 0 | 6.0 ± 1.0 | 6.1 ± 1.1 | 6.1 ± 1.2 | 6.0 ± 0.3 |
| 1 | 5.6 ± 1.1 | 5.6 ± 0.7 | 5.9 ± 0.9 | 5.8 ± 0.8 |
| 2 | 5.5 ± 0.5 | 5.5 ± 0.9* | 5.5 ± 0.8* | 5.5 ± 0.9* |
| 4 | 5.6 ± 1.0 | 5.6 ± 0.8 | 5.8 ± 0.6 | 5.3 ± 1.1** |
| 8 | 5.7 ± 1.1 | 5.6 ± 1.0 | 5.9 ± 1.1 | 5.0 ± 1.0** |

Note : *, **Significantly different from Time (P<0.05, P<0.01)

Table 5. Gingival Fluid Volume (Mean ± S. D.)

| Time(week) | Group1 | Group2 | Group3 | Group4 |
|------------|--------------|---------------|---------------|----------------|
| 0 | 140.8 ± 14.8 | 144.6 ± 24.2 | 141.5 ± 19.4 | 141.0 ± 21.5 |
| 1 | 138.8 ± 16.2 | 135.5 ± 23.2 | 134.2 ± 22.4 | 125.0 ± 28.8* |
| 2 | 146.2 ± 16.8 | 128.0 ± 23.4* | 125.5 ± 19.4* | 110.0 ± 12.0** |
| 4 | 137.7 ± 21.2 | 128.5 ± 14.0* | 129.5 ± 20.7* | 99.4 ± 14.3** |
| 8 | 143.1 ± 12.0 | 126.5 ± 13.2* | 128.5 ± 0.4* | 98.3 ± 10.6** |

Note : *, **Significantly different from Time (P<0.05, P<0.01)

군에서는 1주째 증가하였고 4군에서는 특히 실험 8주까지 꾸준히 증가하는 양상을 보였다 (Figure. 2.). Non-motile rod의 비율은 1군에서는 실험기간동안 유의한 차이를 관찰할 수 없었으나 2, 3군에서는 2주이후, 4군에서는 1주이후 유의하게 증가하였다(Figure. 3.). Motile rod의 비율은 3, 4군에서 1주이후 유의하게 감소하였으며 3군에서는 8주째 유의한 차이를 보이지 않은 반면, 4군에서는 8주째에도 유의한 차이가 있었다(Figure. 4.). Spirochetes의 변화를 보면 1군에서 실험기간동안 꾸준히 증가되는 양상을 보인 반면, 2, 3, 4군에서는 1주이후 유의하게 감소하였다(Figure. 5.).

세균배양검사에 의하면 치은연하 치태의 총 호기성 세균의 집락수는 4군에서 1, 2주에 현저하게 감소하였으며 8주째에는 군들간에 유의한 차이를 관찰할 수 없었다(Figure. 6.). 치은 연하 치태의 총 혐기성 세균의 집락수는 2, 3군에서는 1주째, 4군에서는 1, 2주에 유의하게 감소하였으나 시간이 지남에 따른 유의한 차이를 관찰할 수 없었다(Figure. 7.). *Actinomyces*는 1군에서는 시간에 따른 유의한 차이를 볼 수 없었으나 2, 3, 4군에서 1, 2주에 감소하였고 2, 4군에서는 실험 8주까지 감소된 상태가 비교적 지속적으로 나타났다(figure. 8.). *Streptococcus*는 2, 3, 4군에서는 실험1, 2주에 감소하였으며 4군에서는 8주까지 지속적으로 감소하는 양상을 보였다(Figure. 9.). *Capnocytophage*는 본 실험에서는 발견되지 않았다.

간접 면역 형광법으로 관찰한 결과, *P.intermedius*의 경우, 1, 2, 3군에서는 실험기간 동안 유의한 변화를 관찰할 수 없었으나 4군에서는 1, 2주에 현저하게 감소하는 양상을 보였다 (Fugyre. 10.). *A.actinomycetemcomitans*의 경우 2, 3, 4군에서 1주이후 감소하였으며 4군에서는 비교적 지속적으로 감소된 상태가 유지되었다(Figure. 11.). *F.nucleatum*은 2, 3, 4군에서 1주이후 감소하였으며, 특히 4군에서 현저하게 감소됨을 관찰할 수 있었다(Figure. 12.). *B.forsythus*의 경우 2, 3군에서 1

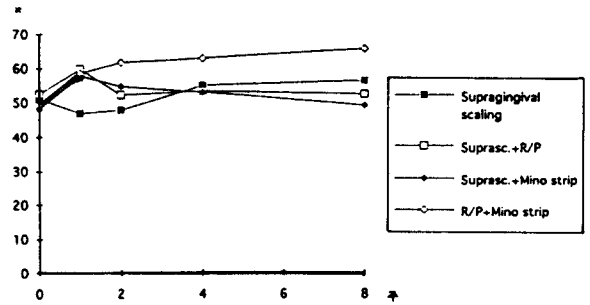


Figure.2.치은 연하 치태 cocci의 시간에 따른 변화

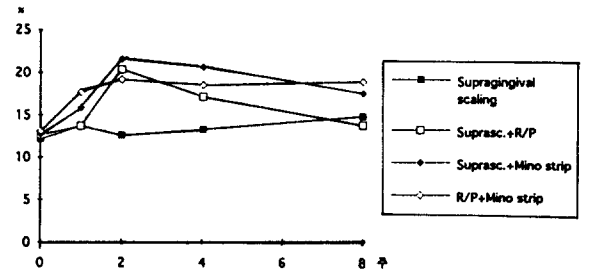


Figure.3.치은 연하 치태 non-motile rod의 시간에 따른 변화

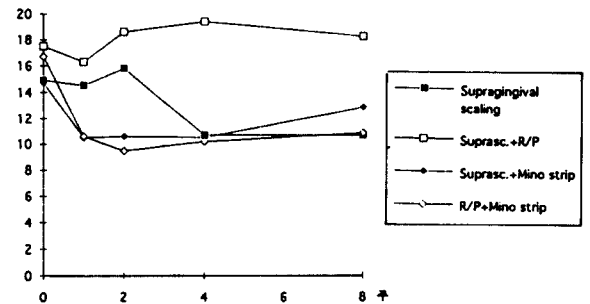


Figure.4.치은 연하 치태 motile rod의 시간에 따른 변화

주째, 4군에서 1, 2주에 감소하였으나, 시간이 지남에 따른 유의한 결과를 관찰할 수 없었다 (Figure. 13.). *C.rectus*의 경우 역시 2, 3군

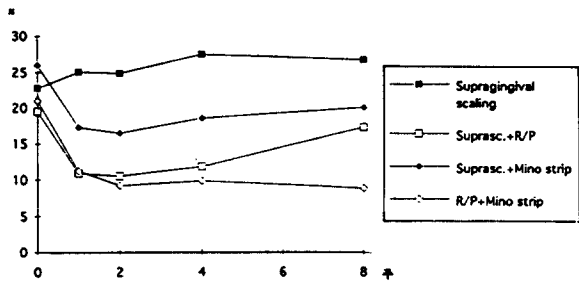


Figure.5. 치은 연하 치태 spirochetes의 시간에 따른 변화

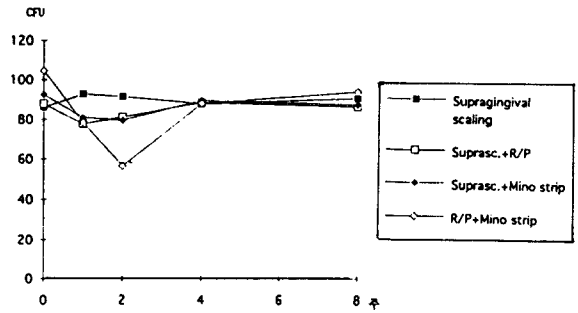


Figure.6. 치은 연하 치태 총 호기성 세균의 시간에 따른 변화

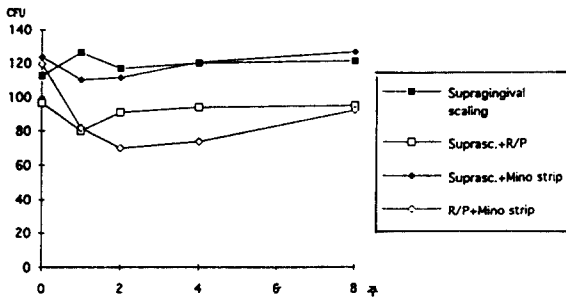


Figure.7. 치은 연하 치태 총 혐기성 세균의 시간에 따른 변화

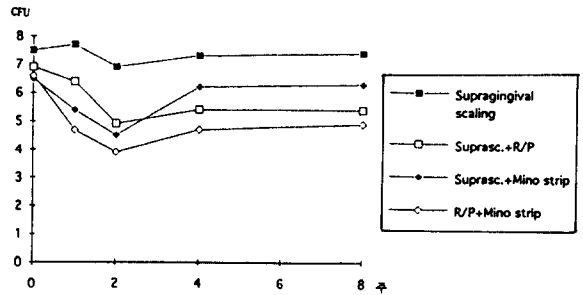


Figure.8. 치은 연하 치태 Actinomyces의 시간에 따른 변화

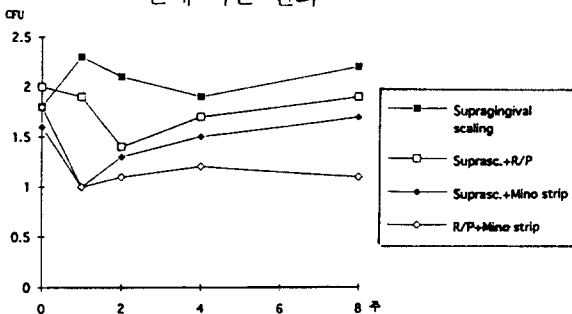


Figure.9. 치은 연하 치태 Streptococcus의 시간에 따른 변화

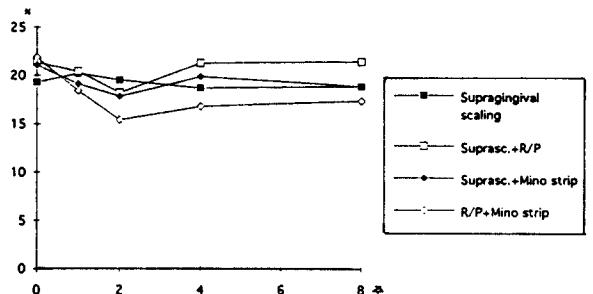


Figure.10. 간접 면역 형광법에 의한 P.intermedius의 시간에 따른 변화

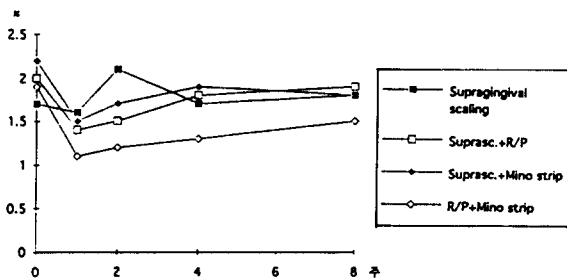


Figure.11. 간접 면역 형광법에 의한 A.actinomycetemcomitans 시간에 따른 변화

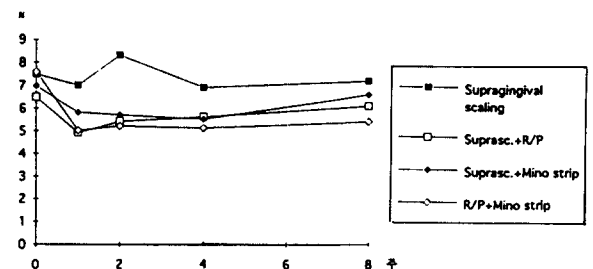


Figure.12. 간접 면역 형광법에 의한 F.nucleatum의 시간에 따른 변화

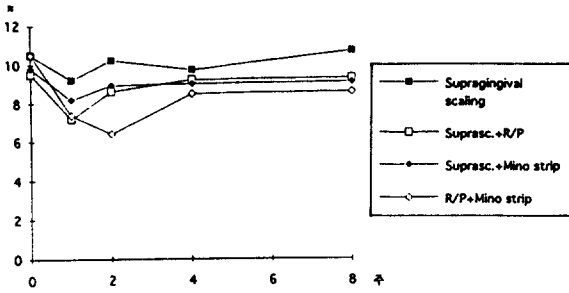


Figure.13. 간접 면역 형광법에 의한 *B.forsythus*의 시간에 따른 변화

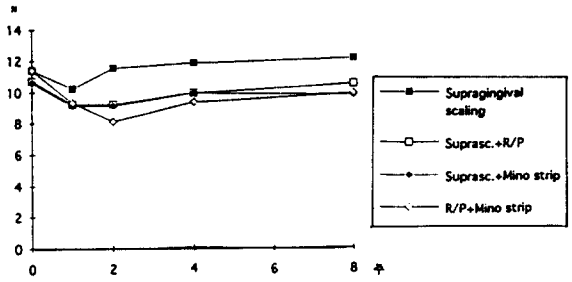


Figure.14. 간접 면역 형광법에 의한 *C.rectus*의 시간에 따른 변화

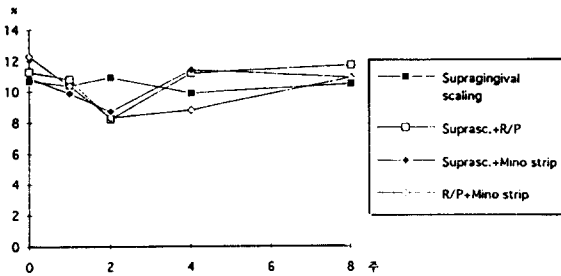


Figure.15. 간접 면역 형광법에 의한 *E.corrodens*의 시간에 따른 변화

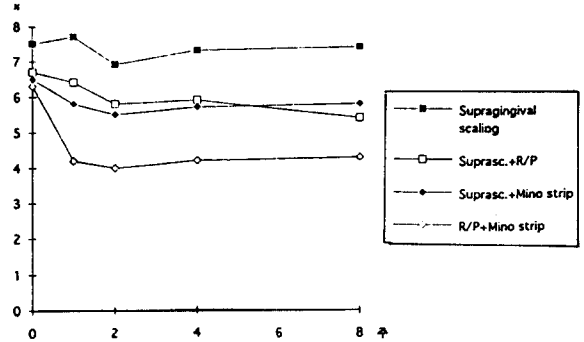


Figure.16. 간접 면역 형광법에 의한 *P.gingivalis*의 시간에 따른 변화

에서 2주째, 4군에서 1주후 감소하였으나 시간이 지남에 따라 다시 증가되는 양상을 보였다 (Figure. 14.). *E.corrodens*는 2, 3, 4군에서 1, 2주에 감소하였으며, 특히 4군에서 현저하게 감소하였다(Figure. 15.). *P.gingivalis*의 경우 4군에서 1주이후 현저히 감소하여 8주까지 지속적으로 유지되었다(Figure. 16.).

IV. 총괄 및 고찰

Tetracycline은 사람^{15,16)}과 동물¹⁷⁾을 대상으로 한 실험에서 치은 열구액내로 침투할 수 있음이 밝혀졌다. Gordon 등¹⁸⁾은 복용시 tetracycline이 혈액내에서보다 치은열구액내에 2배에서 10배 정도로 고농도로 존재한다고 주장하였으며 약 6시간 간격으로 250mg의 tetracycline을 복용하였을 때 48시간 후에 치은열구액에서 약 4-8

ug/ml의 평균농도를 유지한다고 하였다.

Minocycline은 semi-synthetic tetracycline으로써 지용성이 더 크고 혈청반감기가 길며 urinary secretion이 낮은 성질을 가지고 있으며 Ciancio 등¹⁹⁾에 의하면 혈청내 보다 치은열구액에서 5배 정도의 높은 농도를 나타낸다. 이들의 연구에 의하면 하루 150mg의 Minocycline을 8일동안 투여하였는데 48시간후에 치은열구액내 약 6.6내지 15.9ug/ml의 농도를 유지하였으며 8일 이상 치은 연하치태 및 치은염증이 감소하였다고 보고하였다.

Baker 등²⁰⁾은 국소도포용으로 17가지의 항생제를 비교관찰한 결과 Minocycline이 가장 우수한 substantivity를 가지고 있으며 현재 가장 주요한 치주병인균으로 알려져 있는 다섯가지 세균, 즉, *P.gingivalis*, *P.intermedius*, *F.nucleatum*, *A.actinomyces temcomitans*, *Capnocy-*

tophaga등에 우수한 억제능력을 가진다고 하였다. 또한 Minocycline은 치은 collagenase의 억제능력이 있으므로 치주질환의 보조적 수단으로써 유용하다는 것이 밝혀졌다²¹⁾.

본 연구에서 사용한 Mino-strip에서 Minocycline의 방출속도는 생체의 실험에서는 24시간째 660.25ug/ml, 생체내 실험에서는 1,319ug/ml이며 8일째 각각 98.9ug/ml, 553ug/ml로서 대부분의 혐기성 세균에 대한 최소 성장 억제능력을 가지는 농도보다 충분히 높았다²²⁾. 또한 이실험에서 치은 섬유아 세포 독성억제능력을 평가한 결과 실험조건에서 제시한 농도 즉, 160g/ml에서 1280ug/ml에서는 성장억제에 대한 유의한 결과를 관찰할 수 없었다²²⁾.

본 연구에서는 Mino-strip을 1주간격으로 교체하여 2주동안 치주낭내에 삽입하여 임상 및 미생물학적 효과를 평가하고자 하였다. 임상 결과의 하나로 모든 군에서 1, 2주에 치태지수가 감소하였는데 이는 실험 1주전 치은연상 치석 제거술과 함께 구강위생교육을 시행하여 치주관리에 대한 환자의 관심이 증가된 결과라고 볼 수 있다. 치은 지수 역시 모든 군에서 감소하였는데 Mino-strip이나 치근활택술만을 처치한 2, 3군에 비해 치근활택술과 Mino-strip을 동시에 처치한 4군에서 실험 8주까지 현저히 개선된 치은 상태를 관찰할 수 있었다. 2, 3군에서는 일시적으로 염증이 감소했으나 4군에서는 지속적으로 치은의 건강이 개선된 것으로 생각된다.

치주낭 깊이와 부착상실의 변화를 보면, 2, 3군에서는 실험 2, 4주에 일시적인 감소를 보인 반면, 4군에서는 8주까지 꾸준히 감소되었는데 이는 위의 치은 지수의 감소시기와 유사한 것으로 미루어 실제적인 신부착보다는 염증의 감소로 치은 조직이 치밀해짐에 따른 변화라고 생각된다. Armitage등²³⁾과 Spray등²⁴⁾에 의하면 치은 조직의 염증이 probe의 침투에 상당한 영향을 끼친다고 보고한 바 있는데 이것은 본 연구 결과와 일치한다고 할 수 있겠다. 치은 열구액 부피의 변화는 2, 3, 4군에서 2주이후 관찰되었는데 4군에서 특히 현저한 감소를 볼 수 있었으며 치은 지수의 감소와 상관관계가

있을 것으로 생각된다.

미생물학적 검사로써 위상차 현미경으로 세균의 형태에 따라 집락수를 백분율로 비교 관찰한 결과 cocci는 4군에서, non-motile rod는 2, 3 4군에서 증가된 반면, spirochetes와 motile rod의 비율은 상대적으로 2, 3, 4군에서 감소되는 양상을 볼 수 있었다. Listgarten등²⁵⁾에 의하면 건강한 치주조직에 비해 질환에 이환된 치주조직에 motile rod와 spirochetes의 상대적 비율이 현저하게 증가하며, 일반적인 치주치료로 spirochetes와 motile rod의 비율은 현저히 감소하며, cocci의 비율은 상대적으로 증가한다고 보고한 바 있는데 이것은 본 연구 결과와 일치하고 있다. Mousque등²⁶⁾은 한번의 치은 연하 치석 제거술과 치근 활택술의 처치로 motile rod의 비율은 1주동안 감소한 반면 spirochetes의 비율은 현저하게 감소하여 7주동안 그 상태가 지속적으로 유지되었다고 하였다. 본 연구에서는 2, 3, 4군에서 1주이후 spirochetes의 비율이 현저히 감소하였으며 특히 2, 4군에서 8주까지 지속적으로 감소된 상태가 유지됨을 관찰할 수 있었다.

세균 배양검사 결과 총호기성 혐기성 세균의 집락수는 4군에서 1, 2주에 현저히 감소하였는데 Kimura등¹⁴⁾에 의하면 Ofloxacin을 함유한 PT-01을 사용한 실험에서 총호기성 세균의 집락수가 실험 2주에 뚜렷하게 감소하였으며 치은연하 치석제거술 및 치근활택술을 시행한 군에서도 유사한 효과가 있다고 보고하였다. Actinomyces와 Streptococcus는 2군에서는 2주째, 3, 4군에서는 1주째 유의한 감소를 보였는데 streptococcus는 4군에서 시간이 지남에 따라 감소된 상태가 지속적으로 나타났다. Addy등²⁹⁾은 40% Chlorhexidine을 함유한 poly ethylmethacrylate strip을 치주낭에 삽입하여 Streptococcus, Bacteroides, Fusiform 등의 뚜렷한 감소를 관찰하였다. 본 연구에서는 세균배양검사 결과 치근활택술이나 Mino-strip만을 처치한 2, 3군과 치근활택술과 Mino-strip을 함께 처치한 4군에서 모두 치은 연하세균의 양적 개선을 관찰할 수 있었으며, 특히 4군에서 변화량이 많았다고 할 수 있다.

간접 면역 형광법에 의해 치주질환의 주요한 원인균으로 생각되는 *P.gingivalis*, *P.intermedius*, *F.nucleatum*, *B.forsythus*, *E.corrodens*, *C.rectus*, *A.actinomycetemcomitans*의 변화를 관찰하였는데, 4군에서 *P.intermedius*, *F.nucleatum*, *B.forsythus*, *E.corrodens*, *P.gingivalis* 등은 1주 이후 감소되는 양상을 보였고, *A.actinomycetemcomitans* *C.rectus*는 2, 3, 4군에서 감소되었으나 2, 3군에서는 8주동안 감소된 상태가 지속적으로 나타나지는 않았다. 따라서 2, 3군에서는 위에서 언급한 세균의 억제효과가 단기간으로써 양적인 변화가 크지않은 반면 4군에서는 그 효과가 훨씬 크고 지속적임을 알 수 있다. 김등²⁷⁾의 연구에 의하면 20% Minocycline을 함유한 polycaprolactone film을 성인형 치주염을 가진 환자에 적용시켰을 때, *C.rectus*, *E.corrodens*, *F.nucleatum*, *Bacteroides*의 비율이 1, 2주에 현저히 감소하였으며 치은 연상 치석제거술만을 시행한 군에서는 통계적으로 유의한 결과를 얻을 수 없었다고 하였다. Listgarten²⁵⁾과 Lindhe²⁸⁾은 치은연상 치석제거술만으로는 치은연하 치태세균의 뚜렷한 변화를 관찰할 수 없었다고 하였는데 이것은 본 연구결과와 일치하고 있다. Kimura⁴⁾에 의한 연구에서도 Ofloxacin을 함유한 PT-01을 치주낭에 삽입하였을 때 *Black pigmented bacteroides*, *Fusobacterium* 등이 1, 2주에 현저하게 감소하였다.

본 연구결과를 종합해 볼때 치근 활택술후 Mino-strip을 치주낭에 적용시켰을 때 임상적 증상의 완화와 치은 연하세균의 질적 양적인 변화에서 뚜렷한 효과를 가짐을 관찰할 수 있었다. 또한 기존의 치주치료 즉, 치은 연하 치석제거술 및 치근 활택술이나 Mino-strip 자체 역시 치은 연하 세균의 제거에 매우 효과적이거나 비교적 단기간에만 그 효과가 지속됨을 볼 수 있었다. 따라서 급속진행형 치주염을 가진 환자의 치료에서 기존의 치주치료에 병행하여 사용할 경우, Mino-strip은 임상적, 미생물학적으로 우수한 제제라고 사료된다. 앞으로 Mino-strip의 장기적인 효과에 관한 연구가

필요하며 가장 적절한 Mino-strip의 농도 및 적용기간이 결정되어야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구는 급속 진행형 치주염을 가진 환자에서 30% Minocycline을 함유한 polycaprolactone film이 어떠한 임상 및 미생물학적 효과를 가지는가를 평가하고자 하였으며 다음과 같은 결론을 얻었다.

치은연하 치석제거술후 Mino-strip치치로 치은 지수, 치은 열구액량이 1주이후 유의하게 감소하였다.

치은연하 치석제거술후 Mino-strip치치로 치주낭 깊이, 치은부착 상실도가 2주이후 유의하게 감소하였다.

치은연하 치석제거술후 Mino-strip치치로 spirochetes와 motile rod의 비율이 8주동안 유의하게 감소하였으며, 상대적으로 cocci의 비율은 유의하게 증가하였다.

치은연하 치석제거술후 Mino-strip치치로 총 호기성 및 총 혐기성 세균의 집락수는 2주동안 감소하였으며, *Streptococcus*는 8주동안 유의하게 감소하였다.

치은연하 치석제거술후 Mino-strip치치로 *P.gingivalis*, *P.intermedius*, *B.forsythus*, *E.corrodens*, *A.actinomycetemcomitans* *C.rectus*, *F.nucleatum*의 비율이 1주 이후 유의하게 감소하였다.

참고문헌

1. Socransky SS. Microbiology of periodontal disease : Present status and future considerations. J Periodontol 1977 : 48 : 497.
2. Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. J Clin Periodontol 1979 : 6 : 351.
3. Loesche WJ, Syed SA, Schmidt E, Morrison EC. Bacterial profiles of subgingival

- plaques in periodontitis. *J Periodont Res* 1985 : 56 : 447.
4. Newman MG, Socrancky SS. Predominant cultivable microbiota in periodontitis. *J Periodont Res* 1977 : 12 : 120.
 5. Listgarten MA, Lindhe J, Hellden L. Effect of tetracycline and/or scaling on human periodontal disease-Clinical, microbiological and histological observations. *J Clin Periodontol* 1978 : 5 : 246.
 6. Slots J, Mashimo PA, Levine MJ, Genco RJ. Periodontal therapy in human. I. Microbiological and clinical effects of a single course of periodontal scaling and root planing, and of adjunctive tetracycline therapy. *J Periodontol* 1979 : 50 : 495.
 7. Goodson JM, Jaffajee A, Socransky SS. Periodontal therapy by local delivery of tetracycline. *J Clin Periodontol* 1979 : 6 : 83.
 8. Soskolone A, Golomb G, Friedman M, Sela MN. New sustained release dosage form of chlorhexidine for dental use. II. Use in periodontal therapy. *J Periodont Res* 1983 : 18 : 330.
 9. Goodson JM, Offenbacher S, Farr DH, Hogan PE. Periodontal disease treatment by local drug delivery. *J Periodontol* 1985 : 56 : 265.
 10. Yeung, FIS., Newman, HN., Addy, M. Subgingival Metronidazole in Acrylic resin Vs. Chlorhexidine irrigation in the control of chronic periodontitis. *J Periodontol* 1983 : 651 : 657.
 11. Addy M, Rawle L, Handlev R, Newman Hn, Coventry JF. The development and in vitro evaluation of acrylic strips and dialysis tubing for local drug delivery. *J Periodontol* 1982 : 53 : 693.
 12. Minabe M, Takeuchi K, Tomomastu E, Hori T, Umemoto T. Clinical effects for local application of collagen film-immobilized tetracycline. *J Clin Periodontol* 1989 : 16 : 291.
 13. Goulding MJ, Sandahl KO, Nowadly CA, Zambon JJ, Christersson LA. Release of minocycline after subgingival deposition by use of resorbable polymer (Abstr.). *J Periodontol* 1990 : 61 : 84.
 14. Kimura S, Toda H, Shimabukuro Y, Kitamura M, Fujimoto N, Miki Y, Okada H. Topical chemotherapy in human periodontitis using a new controlled-release insert containing ofloxacin. I. Microbiological observation. *J Periodont Res* 1991 : 26 : 33.
 15. Ciancio, S., Singh, S., Genco, R., Krygier, G., and Mather, ML. Analysis of tetracycline in human gingival fluid : Methodology and results. *J Dent Res* 55 : 411 : 1976.
 16. Bader, JL and Goldhaber, P. The passage of intravenously administered tetracycline into the gingival sulcus of dogs. *J Oral Ther* 2 : 180 : 1965.
 17. Goodson, JM., Haffajee, A., and Socransky, SS. Periodontal therapy by local delivery of tetracycline. *J Clin Periodont* 6 : 83 : 1979.
 18. Gprdpm. JM., Walker CM., Nurphy, JC Goodson, JM., and Socransky, SS. Concentration of tetracycline in human crevicular fluid after single and multiple doses. *J Dent Res* 57 : Sp. Issue A, Abstract 977 : 1980.
 19. Ciancio SG, Mather ML, McMullen JA. An evaluation of minocycline in patients with periodontal disease. *J Periodontol* 1980 : 51 : 531.
 20. Baker PJ, Evans RT, Slots J, Genco Rj. Susceptibility of human oral anaerobic bacteria to antibiotics suitable for topical

- use. J Clin Periodontol 1985 : 12 : 201.
21. Golub LM, Nemiroff A, Lehrer G, McMara T, Ramamurthy NS. Minocycline therapy inhibits the abnormal gingival collagenolytic activity during experimental diabetes : Preliminary observations. J Dental Res 62 : 290 Abstract 1085.
 22. 최현순 · 이상철 · 김강주 · 장원규 · 정서영 · 정종평. 30% Minocycline국소약물 송달제제의 생체내, 외 방출 역학, 세포 독성 및 세포활성도 측정. 대한 구강생물학회지. 1992.
 23. Armitage GC, Svanverg GK, Loe H. Microscopic evaluation of clinical measurement of connective tissue attachment levels. J Clin periodontod 1977 : 4 : 173.
 24. Spray JR, Garnick JJ, Doles LK, Klawitter JJ. Microscopic demonstration of the position of periodontal probes. J periodontol 1978 : 49 : 148.
 25. Listgarten MA, Schifter C. Differential dark-field microscopy of subgingival bacteria as an aid in selecting recall intervals : Results after 18 months. J Clin Periodontol 1982 : 9 : 305.
 26. Mousques, T., Listgarten, MA. Effect of scaling and root planing on the composition of the human subgingival microbial flora. J Periodontal Res. 1980 : 144 : 151.
 27. 김원경 · 최상묵. 성인형 치주염에서 Minocycline을 함유한 polycaprolactone film의 임상 및 미생물학적 효과. 대한 치주학회지 1991. Vol.21, No.2, 194-207.
 28. Lindhe J, Heijl L, Goodson JM, Socransky SS. Local Tetracycline delivery using hollow fiber devices in periodontal therapy.

CLINICAL AND MICROBIOLOGICAL EFFECT OF MINOCYCLINE-LOADED POLYCAPROLACTONE FILM ON RAPIDLY PROGRESSIVE PERIODONTITIS

Hyun-Soon Choi, Heung-Sik Um, Chong-Pyoung Chung

Department of Periodontology, College of Dentistry, Seoul National University

The local route of antibiotic administration can accomplish higher therapeutic doses in subgingival sites than those possible by systemic therapy. This investigation assessed on the clinical and microbiological effect of 30% Minocycline loaded polycaprolactone film (Mino-strip) on rapidly progressive periodontitis. Mino-strip was applied in the periodontal pockets of 15 patients with clinically diagnosed as a rapidly progressive periodontitis. 8 sites for each patient with a 5mm probing pocket depth were selected in split mouth design and were assigned into group. i.e., placebo (group 1), supragingival scaling and R/P (group 2), Mino-strip applied only (group 3), R/P and Mino-strip applied (group 4). Supragingival scaling and oral hygiene instruction were performed 1 wk before experiment. Mino-strip was applied weekly on day 0 and 7. Clinical and microbiological test were performed on day 0, 7, 14, 28, 56. In R/P and Mino-strip applied group, Gingival index, GCF volume, probing depth and loss of attachment level were significantly reduced after the first weeks following treatment. In R/P and Mino-strip applied group, the relative proportions of spirochetes and motile rods were significantly reduced and the proportions of cocci and non motile rod were correspondingly increased for eight weeks following treatment. In R/P and Mino-strip treated group, total anaerobic and aerobic bacterial count were significantly decreased for the first two weeks following treatment and streptococcus count was decreased for eight weeks following treatment. In R/P and Mino-strip applied group, *P. gingivalis*, *P. intermedius*, *B. forsythus*, *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *E. corrodens*, *C. rectus* counts were significantly reduced after the first week following treatment.

According to this study, it is appeared that 30% Minocycline-loaded polycaprolacton film was effective in the treatment on rapidly progressive periodontitis.

Key Words : Minocycline, polycaprolacton film, microbiology rapidly progressive periodontitis.